

THESIS

1967

BONN

**Die Beeinflussung der Mundflora
durch das
Antibiotikum Spiramycin**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

LINE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

vorgelegt von

**Volker Klöser, Zahnarzt
aus Stolberg/Rhld.**

Bonn 1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Die Beeinflussung der Mundflora
durch das
Antibiotikum Spiramycin**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt von

**Volker Klöser, Zahnarzt
aus Stolberg/Rhld.**

Bonn 1967

Angefertigt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

Referent: Privatdozent Dr.med.dent. H. B ü c h s

Korreferent: Professor Dr.med.dent. E. S a u e r w e i n

Tag der mündlichen Prüfung: 16.1.1967

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik

für Mund-, Zahn- und Kieferkrankheiten Bonn

Kommissar. Leiter: Professor Dr.med.dent. E. S a u e r w e i n

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. <u>Einleitung: Antibiotika und Zahnheilkunde</u>	5
B. <u>Das Antibiotikum Spiramycin</u>	6
I. Chemie	6
II. Wirkung	7
III. Resistenz	7
IV. Besonderheit: Gewebsaffinität	8
V. Anwendung in der Stomatologie	10
C. <u>Eigene Untersuchungen</u>	12
I. <u>Versuchsmethodik</u>	13
a) Speichelgewinnung	14
b) Keimzählverfahren	14
1.) Abstrichverfahren	14
2.) Mundspülproben	15
3.) Zählkammer	15
4.) Membranfilterverfahren	16
c) Nährboden	19
II. <u>Vorversuch</u>	20
Kontrolle der normalen Mundflora im Tagesablauf	
III. <u>Hauptversuch</u>	28
Das Verhalten der Mundflora nach Spiramycingaben	
a) 1 g Spiramycin/die (Normale Dosis)	29
b) 2 g Spiramycin/die (Doppelte Dosis)	35
c) Nebenerscheinungen	42
d) Vergleich mit anderen Antibiotika	43
D. <u>Diskussion der Versuchsergebnisse</u>	46
E. <u>Zusammenfassung</u>	47
F. <u>Literaturverzeichnis</u>	48

A. Einleitung

Antibiotika und Zahnheilkunde

Die Entdeckung des Penicillins durch Alexander FLEMING im Jahre 1928 war eine bedeutende Wende in vielen medizinischen Bereichen. Es konnten auf einmal Krankheiten behandelt werden, deren Auftauchen vorher oft ein Todesurteil für den Befallenen bedeuteten, es konnten Eingriffe gewagt werden, die vorher bestenfalls in den Wunschträumen mutiger Chirurgen lebten. Denkt man nur z.B. an die Behandlung der Pneumonie oder der Lues, an die früher so hohe Sterblichkeit im Puerperium, vergleicht man im 2. Weltkrieg die Erfolge in der Kriegschirurgie Deutschlands und der Nationen, die Antibiotika zur Verfügung hatten, so wird man sich der immens großen Bedeutung dieser in unserem Jahrhundert neuen Behandlungsweise bewußt.

Heute, nach vier Jahrzehnten stetiger Weiterforschung und -entwicklung, wählt der Mediziner aus einer Vielzahl von Antibiotika dasjenige Präparat, das einen bestimmten Erreger oder eine Erregergruppe optimal erfaßt. Er appliziert das Präparat parenteral oder oral, er wendet es allein oder in Kombination mit anderen an. Den Ort seiner Wirksamkeit, das durch eine Infektion erkrankte Gewebe, erreicht das Antibiotikum auf dem Blutwege, gleich auf welche Weise es in den Körper gelangt ist, und so ist seine Wirksamkeit auf alle Körperregionen erstreckt.

Etwas außerhalb dieses Systems liegen die Gebiete, die besonders für den Zahnarzt von Interesse sind. Die entzündlichen Veränderungen der Mundhöhle können natürlich auch über den Blutweg mit Antibiotika behandelt werden, jedoch ist ihr Entstehungsherd meist nicht im Gewebe, sondern an dessen Oberfläche in der Mundhöhle zu suchen. So ist die übermäßige Keimansiedlung in tief kariös zerstörten Zähnen oder in erweiterten Peridontalspalten, ja oft nur allein die völlig unzureichende Mundhygiene als Ursprung solcher krankhaften Veränderungen anzusehen. Das Medium, über welches hier neben einer selbstverständlichen lokalen Therapie eine bessere Wirkung ausgeübt werden könnte, ist der Speichel,

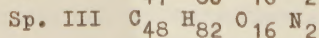
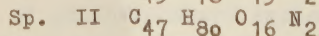
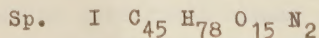
jedoch sind bei den heute verwendeten Antibiotika die Speichelspiegel gegenüber den Blutspiegeln nur äußerst gering.

B. Das Antibiotikum Spiramycin

Zwei französische Autoren, PELLERAT und MAILLARD (25), stellten 1956 fest, daß ein neues Antibiotikum, Spiramycin, sich in diesem Punkte ganz anders verhielt. Seine Speichelskonzentrationen lagen höher und hielten wesentlich länger an als die des Blutes. Könnte damit ein Antibiotikum gefunden sein, welches den Erfordernissen des Zahnmediziners besonders entspricht? Es scheint berechtigt, diese Frage ein wenig näher zu untersuchen.

I. Chemie

Der (organische) Ursprung des Spiramycin sind Kulturen einer Streptomycesart, die S.PINNERT-SINDICO ⁺) im Jahre 1954 erstmals isolierte und beschrieb. Dieser Pilz bildet auf Agarplatten runde, halbkugelige, mit zentralen Eindellungen versehene Kulturen. Unter dem Mikroskop sind feine Geflechte und Ketten erkennbar, die oft spiralig gewunden eng aneinanderliegen. Hier rührt der Name Spiramycin her. Die biologischen und morphologischen Eigenschaften des Pilzes hatten keinerlei Ähnlichkeit mit beschriebenen Streptomycesarten. Aus diesem Grund wurde ihm ein neuer Name, Streptomyces ambofaciens, gegeben. Chemisch handelt es sich um eine Mischung von drei einander sehr ähnlichen organischen Basen, die als Spiramycin I, II, III bezeichnet werden. Die Summenformeln dieser drei Basen lauten:



⁺) Französisches Forschungslabor Rhône-Poulenc in Vitry/Seine

Spiramycinbase ist in den meisten organischen Lösungsmitteln wie Methanol, Äthanol, Chloroform, DME (Dimethylformamid), aber auch in verdünnten Säuren (HCl, H_2SO_4) gut, in Wasser jedoch weniger gut löslich.

In Deutschland ist das Spiramycin unter dem Namen Selectomycin in Kapseln zu 250 mg im Handel. Es ist oral wirksam.

II. Wirkung

Spiramycin zählt zu den sogenannten Mittelspektrumantibiotika. Es erfaßt besonders die grampositiven Erreger, wie Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken und Pneumokokken, aber auch gramnegative Keime zeigen Empfindlichkeit wie Gonokokken, Meningokokken und Keuchhustenbakterien. Spirochäten, Rickettsien und einige große Virusarten sollen ebenfalls gegenüber Spiramycin empfindlich sein.

III. Resistenz

Wichtig, in vielen Fällen problematisch, ist die Frage nach einer Resistenz pathogener Keime gegenüber bestimmten Antibiotica. In den letzten Jahren haben sich Meldungen von Resistenzzunahme bei solchen Mikroorganismen gehäuft (HALLMANN (13), MÜLLER (21)). In der Zahnmedizin sind es besonders die Staphylokokken, die gegenüber vielen Antibiotika wachsende Resistenz zeigen.

In diesem Zusammenhang sind die Ergebnisse erwähnenswert, die DUREL (10) 1955 beim Vergleich mehrerer Antibiotika in Bezug auf Staphylokokkenresistenz erhielt. Über diese Ergebnisse gibt folgende Tabelle Auskunft.

Tabelle 1: Staphylokokkenresistenz gegen Spiramycin und andere Antibiotica (nach DUREL (10))

Antibiotika	Untersuchte Stämme	resistent	empfindlich	sehr empfindlich
Penicillin	56	33 (= 59 %)	12	11
Streptomycin	56	17 (= 30 %)	15	24
Breitband-antibiotika	56	3 bis 16 (= 5-34 %)	7 bis 17	30 bis 36
Neomycin	48	4 (= 8 %)	7	37
Spiramycin	48	1 (= 2 %)	6	41 (= 85 %)

Sie zeigt, daß keines der Antibiotika eine so große Wirkungsintensität wie Spiramycin hat. Dies mag jedoch auch daran liegen, daß Spiramycin das Neueste der untersuchten Präparate war und die in Frage kommenden Keime noch keine Gelegenheit hatten, eine Resistenz zu entwickeln. Dieser Zustand kann sich bei breiterer Anwendung des Spiramycin im Laufe der Zeit ändern.

IV. Besonderheit: Gewebsaffinität

Bei der klinischen Erprobung des Spiramycin fiel auf, daß trotz hoher Dosierung und guter Therapieerfolge - teilweise, wie z.B. bei der Pneumokokkeninfektion, sogar besserer Erfolge als anderer Antibiotika - nur relativ niedrigere Blutkonzentrationen gemessen werden konnten. Eine Erklärung wurde jedoch gefunden, als die Gewebsspiegel des Spiramycin untersucht wurden. Diese waren weitaus höher und hielten länger an als die anderer Antibiotika. So verglichen MANIAR, EIDUS, GREENBERG und FURESZ (11, 17) Spiramycin mit Erythromycin, Oleandomycin, Novobiocin und Carbomycin. Mäusen wurden pro kg Körpergewicht 100 mg der Vergleichsantibiotika subkutan injiziert. In allen untersuchten Organen zeigte Spiramycin die höchsten Konzentrationen; während die anderen Antibiotika schon nach 3 Stunden keine Gewebsspiegel mehr zeigten, war Spiramycin selbst nach 24 Stunden noch nachzuweisen. Nur Erythromycin war noch nach 6 Stunden - wenn auch in geringerer Menge - im Ge-

webe nachzuweisen.

Auch PELLERAT und MAILLARD (26) fanden bei Vergleichen von Penicillin, Streptomycin, Erythromycin, Tetracyclin und Spiramycin nur bei letzterem langanhaltende hohe Gewebskonzentrationen. Diese Autoren verwandten Rhesusaffen als Versuchstiere, um besser auf die mehr interessierenden Werte beim Menschen schliessen zu können. Die folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse des Vergleichs. (Es wird hier außer Spiramycin nur Erythromycin gezeigt, weil dort die einzigen ähnlichen Gewebsspiegel zu messen waren.) Pro kg Körpergewicht wurden 65 mg der Antibiotika, ebenfalls subkutan, injiziert.

Tabelle 2: Antibiotische Gewebsspiegel in γ /mg bei Rhesusaffen nach subkutaner Injektion von Spiramycin und Erythromycin nach PELLERAT und MAILLARD (26)

	Lunge	Milz	Nieren	Leber
5 Stunden Spiramycin	48	71	140	32
Erythromycin	26	49	48	30
18 Stunden Spiramycin	26	62	38	39
Erythromycin	1	0	16	0
24 Stunden Spiramycin	32	58	50	31
Erythromycin	0	0	0	0

Auch hier halten die Gewebsspiegel des Spiramycin weit länger vor als die des Erythromycin. Sie sind entschieden höher als die aller anderen Vergleichsantibiotika.

PELLERAT und MAILLARD (26) setzten diesen Gewebsspiegeln des Spiramycin die Blutspiegel gegenüber. Bei 6 Meerschweinchen stellten sie 2 Stunden nach einmaliger intramuskulärer Injektion (50 mg/kg) folgende Konzentrationen fest:

Blut: 3 - 6 γ /ml
 Herz: 35 - 60 γ /g
 Leber: 16 - 40 γ /g
 Lunge: 27 - 64 γ /g
 Milz: 60 - 128 γ /g
 Niere: 27 - 64 γ /g

Beim Menschen wurden nach Spiramycingabe trotz relativ niedriger Blutspiegel große Konzentrationen in einigen Körperflüssigkeiten gefunden. DUREL (10) wies nach, daß in der Galle ein 25- bis 130-fach höherer Spiramycinspiegel auftrat als im Blut. NELKEN, PELLERAT, BARBASAN und MASSAUX (22) wie auch NEUWEILER und RITTER (23) untersuchten Spiramycinkonzentrationen in der Muttermilch und fanden auch hier weit höhere Spiegel als im Blut. PELLERAT und MAILLARD fanden, wie schon ganz zu Anfang erwähnt wurde, hohe und langanhaltende Speichelkonzentrationen.

Fügt man diesen Untersuchungen noch die Ergebnisse drei weiterer Autoren - SCHLIENGER (28), SOUS (33) und DUREL (9) - hinzu, die unabhängig voneinander aussagen, daß die Blutspiegel des Spiramycin nach einmaliger Gabe ihren - relativ niedrigen - Gipfelpunkt schon nach 2 bis 3 Stunden erreichen, um dann recht gleichmäßig abzufallen und nach etwa 24 Stunden ganz zu verschwinden, während die Gewebsspiegel höher liegen und länger anhalten, dann kann gefolgert werden, daß Spiramycin ein Antibiotikum ist, welches sich durch eine besonders hohe Gewebsaffinität auszeichnet. Vor allen Dingen das Drüsengewebe scheint das Antibiotikum stark aufzunehmen, wie aus den hohen Galle-, Muttermilch- und Speichelkonzentrationen zu ersehen ist.

V. Anwendung in der Stomatologie

Man erkannte nach diesen Untersuchungen, daß Therapieversuche mit Spiramycin im Bereich der Zahn-, Mund- und Kiefererkrankungen sicher zu einem guten Erfolg führen mußten. Meist französische Autoren waren es, die gute Erfolge bei infektiösen Erkrankungen der Mundhöhle beschrieben. So behandelten DALIGAND (7) und DALIGAND und PELLERAT (8) 8 Patienten mit bisher therapieresistenter Parodontitis mit Spiramycin. Über einen Zeitraum von 15 bis 30 Tagen wurden je 0,5 bis 1 g gegeben. Die entzündlichen Veränderungen verschwanden völlig, die Eiterungen bis auf einen Fall ebenfalls. Auch wird von einer Neufestigung der Zähne berichtet. In ihrer Veröffentlichung vom 20. März 1956 schreiben die Autoren: "Nach 25-jähriger stomatologischer Arbeit, die auf das Gebiet der Paro-

dontose gerichtet war, können wir wohl voraussetzen, den größten Teil der Therapeutika untersucht zu haben, die uns ein interessantes Ergebnis zu bringen hoffen liessen. Von diesen aber zitieren wir keines, denn nach Durchsicht unserer Ergebnisse glauben wir nicht, jemals mit einem Präparat gearbeitet zu haben, das uns solch ermutigende Resultate gegeben hätte wie das hier beschriebene" Spiramycin (d.Ref.). Dieses so enthusiastisch gespendete Lob findet sich auch in den Arbeiten der meisten anderen Autoren.

CARVALLO (5) behandelte besonders Gingivitiden und Stomatitiden mit Spiramycin und erhielt gute Ergebnisse. Er empfiehlt in den ersten 5 Behandlungstagen eine Dosis von 0,5 g pro die, dann bis zum 15.Tag 0,25 g pro die. In schweren Fällen verdoppelt er die Dosis. HESS (14) verwendet bei der Behandlung von Parodontopathien 0,5 g pro die, seine empfohlene Behandlungsdauer beträgt ebenfalls 15 Tage. Er berichtet von völligem Verschwinden der entzündlichen Erscheinungen und einer Neufestigung der Zähne. Weitere Autoren, die von guten Erfahrungen mit Spiramycin berichten, sind COUTURIER (6) und MOESCHLIN und SCHROEDER (20). In neuester Zeit erscheinen auch Arbeiten deutscher Verfasser wie KOTNIK (15), MEIER (18) und SCHÜLE (30), die Spiramycin bei Gingivitiden und Parodontopathien mit gutem Erfolg anwandten. Als Nebenerscheinungen geben einige Autoren gelegentlich weiche Stühle an. Massive Diarrhoen, wie sie bei langdauernder Therapie mit oral wirksamen Antibiotika nicht ungewöhnlich sind, werden nicht beobachtet. Allein HESS (14) berichtet von einem Fall absoluter Unverträglichkeit.

C. Eigene Untersuchungen

Aufgabe dieser Arbeit soll es nicht sein, diese mannigfaltigen klinischen Erfahrungen noch zu ergänzen. Die Aufmerksamkeit wird vielmehr auf einen Punkt gerichtet, der bisher noch nicht untersucht wurde. Die Stärke der Mundflora soll nach oraler Gabe von Spiramycin verfolgt werden. Als Grundlage diene die Arbeit von PELLERAT und MAILLARD (25). An deren Ergebnisse anknüpfend ging SOUS (33) weiter und verglich Blut- und Speichelspiegel des Spiramycin mit den entsprechenden Werten anderer Antibiotika. Ausgewählt wurden von ihm Penicillin V und Propicillin. Er prüfte nach einmaliger Gabe, wie sich nach 2, 4, 6, 8, 10 und 12 Stunden die Konzentrationen verhielten. Die Auswertung zeigte, daß Penicillin V und Propicillin niedrigere, Spiramycin aber einen weit höheren und länger andauernden Speichelspiegel als Blutspiegel hatte. Die folgende Abb.1 gibt seine Ergebnisse summarisch wieder.

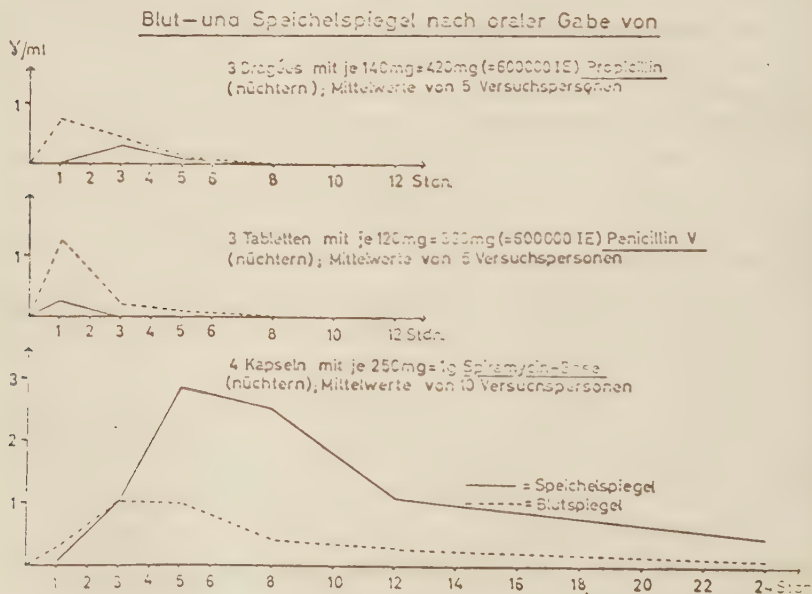


Abb.1: Blut- und Speichelspiegel nach oraler Gabe von Propicillin, Penicillin V und Spiramycin nach SOUS (33)

Ausgehend von diesen Untersuchungen und den bei Spiramycin so ganz aus der Norm heraustretenden Ergebnissen soll geprüft werden, wie diese hohen antibiotischen Konzentrationen im Speichel sich bakteriologisch auswirken, ob sie nur eine Nebenwirkung sind und der Hauptwirkungsmechanismus auch bei diesem Präparat der Blutweg ist, oder ob sie vielleicht als ein wesentlicher Bestandteil des therapeutischen Effekts angesehen werden müssen.

I. Versuchsmethodik

Die primäre Überlegung ist nun, wie man diese beiden Wirkungsmechanismen - den über das Blut und den über den Speichel - voneinander trennen kann, um die Auswirkung der Speichelskonzentrationen allein zu erfassen. Dies wird mit genügender Genauigkeit gelingen, wenn die Anwendung des Spiramycin nicht, wie bei den französischen Autoren, bei Patienten mit krankhaften bzw. entzündlichen Veränderungen der Mundschleimhaut durchgeführt wird, sondern bewußt bei Schleimhautgesunden. Jeder Entzündungsprozeß nämlich ist mit einer starken Hyperämie verbunden, es kommt - besonders im Munde - häufig zu Blutaustritten und Eiterungen, also zu einer Mischung von Speichel und Blut, so daß bei einer Untersuchung nicht mehr mit ausreichender Sicherheit gesagt werden kann, welche Wirkung durch den Speichelspiegel des Antibiotikums und welche durch den Blutspiegel eingetreten ist. Bei gesunden Personen dagegen kann man folgern, daß die normale Keimbesiedlung der Mundhöhle nicht mit dem Blut und darin mitgeführten Stoffen in Berührung kommt. Allerdings liegt auch hier wieder ein Unsicherheitsfaktor. Der Aufenthaltsort und besonders der Entstehungsort der anaeroben Besiedlung ist sehr häufig in derart tiefen Taschen und kleinsten Spalten zu suchen, daß der Einfluß der Speichelskonzentration von der möglichen Einwirkung eines dort zur Geltung kommenden Blutspiegels wiederum nicht mit genügender Genauigkeit zu trennen ist. Um nun bei den anschließenden Untersuchungen ein möglichst wahrheitsgetreues Bild zu erlangen, werden die rein anaeroben Keime ausgeklammert. Dies geschieht auch aus noch anderen Gründen: BERGER und HUMMEL (4) stellen fest, daß nur wenige Anaerobier bei

der quantitativen Bestimmung annähernd gleich gute Ergebnisse erhoffen lassen wie die Aerobier. Außerdem geben sie zu bedenken, daß eine große Schwierigkeit darin liegt, aerob und anaerob gezüchtete Keime derselben Flora zu einem Wert zu vereinigen. Blosser Addition kann im Hinblick auf die im Mund überwiegenden fakultativen Aerobier, wie z.B. Streptokokken und Lactobazillen, die auf beide Arten wachsen, nicht genügen. Hier müßte eine qualitative Bestimmung hinzukommen, die aber den Rahmen dieser Arbeit bei weitem sprengen würde.

Die Auswirkung des Spiramycinspiegels im Speichel auf die Mundflora wird nun auf folgendem Weg geprüft: Bei verschiedenen Versuchspersonen soll vor, während und nach einer Behandlung mit dem Antibiotikum eine quantitative Bestimmung des Keimgehaltes erfolgen. Es ist festzustellen, ob und inwieweit eine Änderung des Keimgehaltes erzielt wird.

a) Speichelgewinnung

Die Art der Gewinnung des zu untersuchenden Speichels spielt eine große Rolle. Direkt aus den Ausführungsgängen der Drüsen kommendes Sekret (der sogenannte Ablaufspeichel) wird sehr wenige Keime enthalten. Ein recht wahrheitsgemäßes Bild liefert der Kauspeichel, welcher durch längeres Bespülen der Mundschleimhaut durch intensive Kau- und Saugbewegungen erhalten wird. Mit dem auf diese Weise gewonnenen Untersuchungsmaterial soll gearbeitet werden.

b) Zählverfahren

Methoden zur Darstellung und Zählung von Keimen werden von vielen Autoren in großer Zahl angegeben. Für diese Arbeit kommt aber nur, um exakte Ergebnisse zu gewährleisten, ein solches Verfahren in Betracht, welches ein genaues Auszählen der vorhandenen Mikroorganismen gestattet.

1.) Speichelabstrich

Das einfache Abstrichverfahren, bei welchem das Untersuchungsma-

terial von einer genau zu lokalisierenden und gleichbleibenden Stelle der Mundschleimhaut (z.B. der Fossa canina) mit einem sterilen Instrument "abgestrichen" und auf geeigneten Nährböden bebrütet wird, kann, wenn überhaupt, nur ungenaue Ergebnisse zeitigen. Die Besiedlung bestimmter Bezirke der Mundhöhle zeigt nämlich zwar ein Charakteristikum für diesen speziellen Ort, jedoch herrschen am glatten und gutbespülten Gaumen doch ganz andere Verhältnisse als z.B. am Gingivalsaum der Zähne. Deshalb ist auf diese Art kein allgemein gültiges Bild zu erlangen.

2.) Mundspülproben

Auch das Verwenden von Mundspülproben, bei denen eine bestimmte Menge steriles Aqua destillata im Munde gut durchgespeichelt wird, genügt den Erfordernissen in Bezug auf Genauigkeit nicht. Selbst wenn hier nach entsprechender Verdünnung und durch Bebrütung auf Nährböden die einzelnen Keime als Kolonien darstellbar sind, also quantitativ bestimmt werden können, bietet das Verfahren doch große Quellen für Ungenauigkeiten.

3.) Zählkammer

Die mikroskopische Zählung in einer Zählkammer endlich gibt ebenfalls keine realen Werte. Hier werden viele sichtbare, aber nicht mehr lebensfähige Mikroorganismen mitgezählt. So werden die mit Abstand höchsten Keimzahlen gefunden. Gegenüber den aus kulturellen Verfahren ermittelten Ergebnissen sind diese bis 40 mal so hoch (BERGER und HUMMEL (4)).

Der Hauptgrund, warum diese Verfahren nicht den speziellen Anforderungen genügen, liegt außer bei der mikroskopischen Zählung in folgendem: Bei allen späteren Keimentnahmen wird zwangsweise mit dem Speichel auch je nach Zeitpunkt des Versuchsablaufs mehr oder weniger des Antibiotikums mitentnommen. Werden nun die Keime in dessen Anwesenheit bebrütet, so wird unter Umständen das Wachsen von Kolonien gehemmt und so das Ergebnis verfälscht. Es muß also ein Weg gefunden werden, auf welchem nach der Speichelentnahme - möglichst unmittelbar danach - das anwesende Antibiotikum entfernt werden kann.

4.) Das Membranfilterverfahren

Über eine Methode, die diesem Problem Rechnung trägt, berichten BELING (2), BACHMANN (1), SCHMIDT (29) und SOUS (32) und viele andere Autoren. Es handelt sich hierbei um das Membranfilterverfahren, welches heute in großen Bereichen der Mikrobiologie Verwendung findet.

Abb.2: Membranfilter vom Typ Coli 5

Die Abtrennung von Schwebestoffen aus Flüssigkeiten erfolgt hier im Gegensatz zu Adsorptionsfiltern auf Grund des Verhältnisses von Porengröße zu Teilchengröße. Die Flüssigkeit wird "gesiebt". Auf diese Weise können bei richtiger Porengröße die Keime zurückgehalten werden, die gelösten antibiotischen Bestandteile aber passieren das Filter. Nach der Filtration kann nun das Filterblättchen, welches an seiner Oberfläche die aus der Flüssigkeit extrahierten Keime trägt, sofort auf einen entsprechenden Nährboden gebracht werden. Bei der Bebrütung diffundieren Nährstoffe - bei bestimmten Böden auch Farbstoffe - durch die Filterschicht, so daß die auf der Oberfläche liegenden Keime zu gut sichtbaren, gefärbten Kolonien heranwachsen, die ein müheloses Auszählen ermöglichen. Diese Methode scheint für die hier vorliegende Arbeit die geeignete zu sein, wenn sie auch umfangreiches Material voraussetzt. Außer den Filtern selbst wird nämlich ein Gerät benötigt, welches ein Filtrieren unter steilen Kautelen und eine Beschleunigung der normalerweise viel zu langen Filtrationszeit durch Über- bzw. Unterdruck ermöglicht. Ein solches Gerät liefert die Herstellungsfirma (Membranfilter AG, Göttingen).

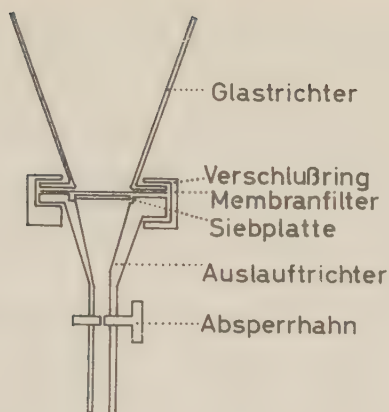


Abb.3: Membranfiltergerät vom Typ K 5

Es wurde speziell für bakteriologische Untersuchungen entwickelt und besteht aus einem Metallfiltertisch und einem verschließbaren Ablaufrohr. In den Filtertisch ist eine Metallsiebplatte eingesetzt, auf welche die Filter aufgelegt werden. Zum Eingießen der Untersuchungsflüssigkeit wird ein trichterförmiger Aufsatz mit einem Bajonettverschlußring auf den Filtertisch geklemmt. Ein Deckel mit Wattefilter schützt vor Infektion aus der Luft. Dieses Gerät wird mit einem Gummistopfen auf eine Saugflasche aufgesetzt, die ihrerseits mit einer Unterdruckpumpe (Wasserstrahl oder ähnliches) in Verbindung steht.

Für den Versuchsablauf werden benötigt: Ein Bakteriennachweisgerät in Zusammenhang mit speziell für die Bakterienfiltration entwickelten Membranfiltern vom Typ K 5, welche zur Erleichterung des Auszählens der Kulturen mit einem Gitternetz versehen sind. Ihre Porengröße beträgt 0,3 Mikron; außerdem physiologische Kochsalzlösung, verschließbare Reagenzgläser in einem Ständer, graduierte Pipetten, Nährböden, eine Wasserstrahlpumpe, ein Bunsenbrenner und eine Pinzette. Die gesamte Versuchsanordnung ist zu sterilisieren. Es ist in einem möglichst keimfrei gemachten Raum zu arbeiten. (Die Keimarmut des Raumes wird auf die übliche Weise erreicht.)

Acht Reagenzgläser werden mit je 9 ml physiologischer Kochsalzlösung gefüllt, in ein 9. wird die zu untersuchende Speichelprobe gegeben (> 1 ml).

Unter Verwendung jeweils einer neuen Pipette wird eine Verdünnungsreihe von $1 : 10^1$ bis $1 : 10^8$ angelegt. Diese Größenordnung ist erforderlich, weil die im Munde auftretenden Keimkonzentrationen in der Größenordnung von 4 bis 400 Millionen liegen (BERGER und HUMMEL (4), HALLMANN (13)).

Der abgeflamnte Filtertisch wird auf die Saugflasche gesetzt, welche an die Vakuumpumpe angeschlossen ist. Das vorher ausgekochte Membranfilter (20 Min. in Aqua dest. bei kleiner Flamme oder Autoklav) wird mit einer abgeflamnten Pinzette auf die Fritte gelegt (das Gitternetz zeigt nach oben) und mit dem Trichteraufsatz auf dem Filtertisch festgeklemmt. Der Hahn des Gerätes wird geschlossen, der Deckel an seiner Seite leicht angehoben und der höchste Verdünnungsgrad zuerst in den Trichter gegossen. Dann wird Vollvakuum hergestellt. Mit dem Öffnen des Hahnes beginnt die Filtration. Nach Durchlauf aller Flüssigkeit und Nachspülen mit etwas physiologischer NaCl-Lösung wird der Aufsatz abgedreht und das Membranfilter mit neu abgeflamnter Pinzette sofort auf den Nährboden aufgelegt. Das Gitternetz zeigt auch hier wieder nach oben. Um zu vermeiden, daß sich unter dem Filter Luftblasen bilden - hier würde durch mangelhafte Nährstoffzufuhr das Kalorienwachstum behindert -, wird dieser am besten zuerst mit einer Kante aufgesetzt und dann in einer Bewegung abgerollt. Vor der nächsten Filtration erfolgt eine Kurz-Sterilisation des Geräts: Ein an einem Stab befestigter, mit Alkohol getränkter Wattebausch wird entzündet und der Aufsatz, der Filtertisch und die Fritte abgeflamnt. Die Herstellerfirma empfiehlt sogar, bei dieser Sterilisation die Vakuumpumpe in Betrieb zu nehmen, so daß brennender Alkohol auch durch die Fritte fließt (Membranfiltergesellschaft Göttingen (19)). Den Erfordernissen dieser Sterilisation tut aber auch die Bunsenflamme Genüge.

Die Arbeitsweise vom obersten Verdünnungsgrad an abwärts wurde aus folgender Überlegung heraus gewählt: Bei der Sterilisation

wird durch die erforderliche Abkühlung des Gerätes viel Zeit verloren. Durch die oben erwähnte Reihenfolge der Filtrationen einer Reihe kann hier auf diese neuen Sterilisationen verzichtet werden. Dies läßt sich am leichtesten an einem Beispiel erklären: Wenn bei einer Filtration selbst 10 % der in der Flüssigkeit befindlichen Keime an der Innenseite des Gerätes haften blieben, würde sich dies in der nächsten Filtration - also der nächstniedrigen Zehnerpotenz - nur als 1 % auswirken. Da in Wirklichkeit jedoch nur ein ganz minimaler Teil der Flüssigkeit haften bleibt, kann dieser bei der nächstniedrigen Verdünnung überhaupt nicht in Erscheinung treten.

Die Nährböden werden 36 bis 48 Stunden bei 37° C bebrütet und anschließend die zu sichtbaren Kolonien ausgewachsenen Keime ausgezählt. Bei den späteren Versuchen zeigte sich, daß Kolonienzahlen von 500 und 5 keine realen Ergebnisse ergaben. Die 2 oder 3 Filterplättchen, die Kolonienzahlen zwischen 5 und 500 zeigen, sind also bei einer Reihe auszuwerten; die genaue Auswertung soll bei der ersten durchgeführten Reihe beschrieben werden.

a) Nährboden

Es erhebt sich noch die Frage des geeigneten Nährbodens. Dieser soll so beschaffen sein, daß alle normalerweise in der Mundflora vorhandenen aeroben Keime optimal wachsen können. Die Besiedlung der Mundhöhle zeichnet sich durch eine Vielzahl von Gattungen und Arten aus. Den Hauptanteil stellen die Streptokokken, etwa 50 - 80 % (BERGER (3)). Es folgen Neisserien mit etwa 5 % Anteil, gram-positive Mikrokokken und Corynebakterien. Weniger häufig sind Diplokokken, einige Haemophilusarten und Lactobazillen. In sehr geringer Zahl sind auch einige pathogene Arten wie hämolysierende Streptokokken und Mikrokokkus pyogenes vertreten. All diese Arten gehören zur sogenannten Standardflora, welcher eine Durchgangsflora gegenübersteht. Diese kann alle normalerweise im Darm vorkommenden Keime enthalten sowie freilebende Arten der Außenwelt und einige pathogene Arten in unterschwelligen Konzentrationen (BERGER und HUMMEL (4), HALLMANN (13)).

Den Aerobiern unter diesen Keimen genügt zum Wachstum ein Blut-agar-Nährboden mit folgender Zusammensetzung:

- 1 % Fleischextrakt
- 1 % Pepton (Proteosepepton Nr.3 DIFCO)
- 1 % Dextrose
- 0,3 % NaCl
- 2,5 % Agar-Agar
- 10 % Rinderblut

Der pH-Wert liegt bei 7,4

II. Vorversuch

Kontrolle der normalen Mundflora im Tagesablauf

Die Keimbesiedlung des menschlichen Verdauungstraktes differiert nicht nur bei den verschiedenen Individuen, sie ist auch beim Einzelnen starken temporären Schwankungen unterlegen. Besonders im Mund-Rachen-Raum kommt es durch die oft wechselnden äußeren Einflüsse, ganz erheblich aber auch in einem täglichen Rhythmus, immer wieder zu unterschiedlichen Zahlenwerten. BERGER (3) gibt eine Tageskurve der Keimkonzentration im Speichel an, die in folgender Graphik zum Ausdruck kommt (s.Seite 21).

Nach seiner Beschreibung findet man "die höchsten Werte im allgemeinen morgens vor dem Frühstück, da die Mundflora während der Nacht Zeit und Ruhe gehabt hat, sich kräftig zu vermehren. Die tiefsten Werte erhält man dagegen jeweils nach den Mahlzeiten - sie können dann auf ein Viertel des Nüchternwertes reduziert sein -, doch sind die Ausgangswerte nach 2 bis 3 Stunden meist wieder erreicht".

Diese Ergebnisse BERGER's werden als Ausgangspunkt des folgenden experimentellen Teils dieser Arbeit gewählt.

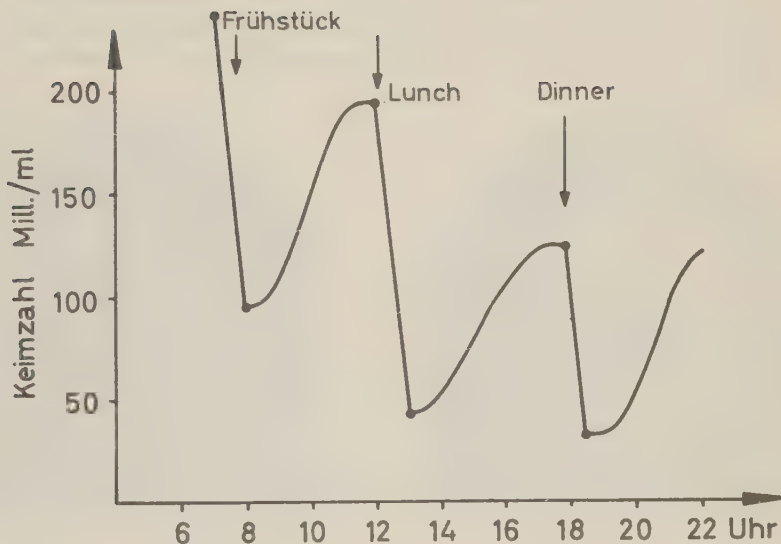


Abb.4: Tageskurve der Keimkonzentrationen im Speichel nach BERGER (3)

Als erstes soll zu einer beliebigen Zeit eine Keimbestimmung erfolgen, um überhaupt einmal mit der Methodik vertraut zu werden. Der schon angeführten Versuchsbeschreibung muß hier noch etwas hinzugefügt werden. Da die Keime im Speichel selten einzeln, sehr oft aber in Haufen oder Ketten aneinanderliegen, jeder solche Verband aber bei der Züchtung nur eine Kolonie ergeben kann, müssen sie direkt nach der Speichelentnahme soweit wie möglich voneinander getrennt werden. Dies geschieht durch mehrminütiges Schütteln mit sterilen Glasperlen (BERGER und HUMMEL (4)). Eine bessere, wenn auch gefährlichere Methode, da durch sie die Keime geschädigt werden können, ist die von WILLIAMS (34) genau beschriebene Trennung mittels Ultraschall. Bei den hier vorliegenden Untersuchungen war ein dafür erforderliches Gerät jedoch nicht vorhanden. Nach dieser Trennung erfolgen die Verdünnung, Filtration und Be-

brütung wie oben beschrieben. Zur Auswertung kommen die Verdünnungsgrade 10^6 , 10^7 und 10^8 , da die zu erwartende Keimzahl in diesem Größenbereich liegt (s.o.). Die vorliegenden Bilder veranschaulichen, wie diese auf Blutagarplatten bebrüteten Membranfilter nach 48 Stunden klar und deutlich die gewachsenen Keimkolonien zeigen und wie gut sie sich auszählen lassen.

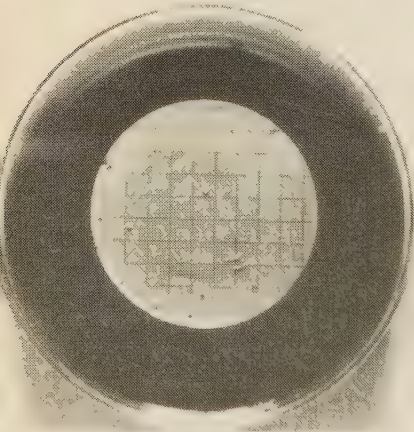


Abb.5: 10^8 5 Kolonien
(1 : 100 000 000)

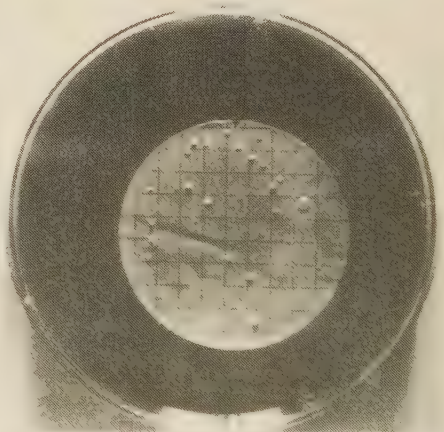


Abb.6: 10^7 38 Kolonien
(1 : 10 000 000)

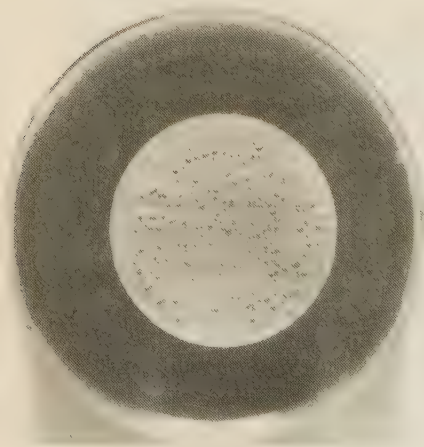


Abb.7: 10^6 386 Kolonien
(1 : 1 000 000)

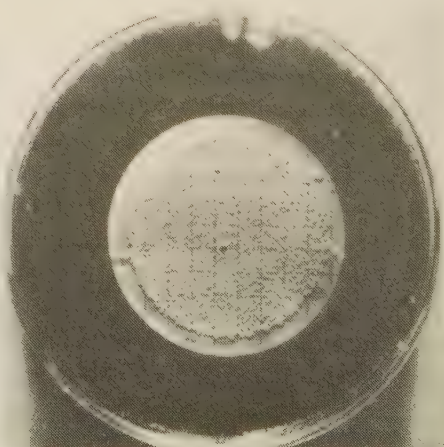


Abb.8: 10^5 unzählbar
(1 : 100 000)

Die Auswertung findet auf folgende Weise statt: Aus der Verdünnung 10^7 wurde 1 ml weiterpipettiert. Damit dieser ml bei der späteren Zählung nicht außer Acht gelassen wird, muß der bei 10^8 gefundene Wert zur Keimzahl der Verdünnung 10^7 addiert werden. Zu der bei 10^6 gefundenen Keimzahl müssen folglich die Werte von 10^7 und 10^8 hinzugefügt werden. Das arithmetische Mittel aus den drei gefundenen Zahlen repräsentiert die genaue Keimzahl für 10 ml des untersuchten Speichels.

$$\begin{array}{l} 10^6 \times (386 + 38 + 5) = 429 \times 10^6 \\ 10^7 \times (\quad 38 + 5) = 430 \times 10^6 \\ 10^8 \times (\quad \quad 5) = 500 \times 10^6 \end{array}$$

Arithmetisches Mittel = 453 Mill.

Keimzahl/ml = 45,3 Millionen

Das Auszählen großer Keimzahlen auf einem Filter ist leichter, wenn man auf die getrocknete Filterscheibe ein mindestens gleichgroßes Glasplättchen (z.B. Petrischalendeckel) auflegt. Nun wird auf dem Glase jede gezählte Kolonie mit einem Stift "ausgepunktet". Auf diese Weise wird keine Kolonie vergessen und keine doppelt gezählt.

Die graphische Darstellung der täglichen Schwankungen des Speichelgehaltes von BERGER soll nun an Hand einiger Stichproben überprüft werden. Einer Testperson wird früh am Morgen, unmittelbar nach dem Aufstehen, eine Speichelprobe entnommen. Es folgen normales Zähneputzen mit handelsüblicher Zahnpasta und ein normales Frühstück. Eine halbe Stunde später wird eine zweite Speichelprobe entnommen.

Die Auswertung ergibt folgende Keimkonzentrationen:

Testperson	Zeit	Verdünnungsgrad				Keimzahl (Mill.)
		10^6	10^7	10^8	10^9	
V.K.	7,30	unzähl-	368	44	3	442,5
23 J.		bar				
♂	8,00	263	36	3	-	30,6

Es wurde ein Abfallen bis auf etwa $1/15$ des vorher angetroffenen

Keimgehaltes festgestellt, also ein weit stärkerer als in der von BERGER angegebenen Kurve. Dies mag aber auch daran liegen, daß hier ein Einzelfall vorliegt, während dort Durchschnittswerte angegeben sind. Da die Mundflora im Laufe des Lebens jedem Alter bzw. Mundstatus entsprechend Änderungen erfährt - die Besiedelung des Säuglingsmundes ist anders als die des milchbezahnten, im vollbezahnten Erwachsenenengebiss herrschen andere Verhältnisse als im zahnlosen Munde -, sollen in Zukunft immer Personen aus einer Altersgruppe gewählt werden - der tadellose Zustand des gesamten Mundbereiches ist schon oben erwähnt. - (Dies wurde dadurch erleichtert, daß in den Reihen der eigenen Kommilitonen das größte Verständnis und der beste Wille zur Mitarbeit gefunden wurde. Auch die Notwendigkeit für die bei allen Versuchen so wichtige Pünktlichkeit wurde hier am ehesten eingesehen.)

Bei 5 Personen sollen nun an mehreren Tagen und zu verschiedenen Zeiten Speichelproben entnommen werden. Nach der Auswertung soll ein Vergleich mit dem Verlauf der BERGER'schen Kurve vorgenommen werden. Es ist nicht auf eine Gleichheit der Werte, sondern auf ein Übereinstimmen im Kurvenverlauf zu achten. Die folgende Tabelle (s.S.25) gibt Aufschluß über die Ergebnisse.

All diese Werte ergeben tageszeitlich geordnet Kurven oder Kurvenstücke, die der von BERGER aufgestellten gleichen. Unterschiede ergeben sich lediglich in der Höhe der Werte, jedoch ist eine grundsätzliche Ähnlichkeit überall festzustellen.

Um mit diesem laufend solch großen Schwankungen unterliegenden Medium überhaupt exakt arbeiten zu können, muß versucht werden, eines Tageszeit zu finden, welche möglichst exakte - das heißt nicht durch äußere Einwirkungen wie die Mahlzeiten verfälschte - und über längere Zeit konstante Werte liefert.

Dieser Aufforderung genügen theoretisch die Zeiten unmittelbar vor den Mahlzeiten, da die Mundflora mindestens einige Stunden Zeit gehabt hat, sich zu erholen. Aus technischen Gründen kann die Zeit vor dem Abendessen nicht gewählt werden, da diese für einen klinischen Betrieb und auch im Hinblick auf die möglichst sofort zu

Tabelle 3: Keimkonzentrationen im Speichel zu verschiedenen Tageszeiten

Testperson	Tag	Zeit	Werte der Verdünnungen			Keimzahl Mill./cm ³
			10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	
1.	1	10,00	325	43	5	41,7
	3	9,00	108	9	1	10,4
	4	17,00	~ 650	75	12	103,0
	6	12,00	über 1000	128	13	135,5
2.	2	9,00	116	9	2	11,3
	3	12,00	~ 600	89	10	99,0
3.	1	9,00	284	31	2	32,5
	3	17,00	~ 700	173	15	169,0
	4	12,00	über 1000	143	19	176,0
	6	10,00	415	42	7	44,3
4.	2	9,00	379	35	3	33,5
	3	12,00	510	71	7	68,0
5.	2	9,00	265	37	2	33,5
	3	12,30	über 1000	130	21	180,0

beginnende Auswertung zu ungünstig ist. Die Zeit am frühen Morgen würde diese Schwierigkeiten nicht mit sich bringen, jedoch bestehen hier Bedenken, ob genügend viele Versuchspersonen bereit sind, über eine gewisse Zeitspanne morgens ohne Mundhygiene und besonders ohne Frühstück die Klinik zur Speichelabgabe aufzusuchen. Es bleibt also die für den klinischen Betrieb ebenfalls günstige Zeit vor dem Mittagessen. Zu klären ist die Frage nach der Konstanz der zu dieser Tageszeit gefundenen Werte über eine gewisse Zeitspanne hinweg. Dies wird an zwei Testpersonen untersucht. Bei den wird über einen Zeitraum von vier Tagen jeweils um 12,00 Uhr mittags eine Speichelprobe entnommen und ausgewertet. Beide Personen sind angehalten, die Zeit der morgendlichen Mund-Toilette und das Frühstück an diesen Tagen möglichst nicht zu verändern. Außerdem soll zwischen Frühstück und Speichelentnahme nicht gegessen und getrunken werden; auch das Rauchen ist möglichst zu unterlassen (PINDBORG (27)).

Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchung:

Tabelle 4: Keimkonzentrationen im Speichel bei gleichbleibender Tageszeit

Test- person	Tag	Zeit	Werte der Verdünnungen			Keimzahl Mill./ml
			10^6	10^7	10^8	
V.K. 23 J.	1	12,00	über 1000	132	17	159,5
	2	12,00	~ 850	104	18	151
	3	12,30	über 1000	121	17	154
	4	12,00	über 1000	147	19	178
	5	12,00	~ 1000	129	14	141,5
W.F. 23 J.	1	12,00	~ 800	103	12	117,5
	2	12,00	~ 720	105	9	102
	3	12,30	über 1000	122	14	138
	4	12,00	685	93	13	118
	5	12,00	~ 900	128	10	119

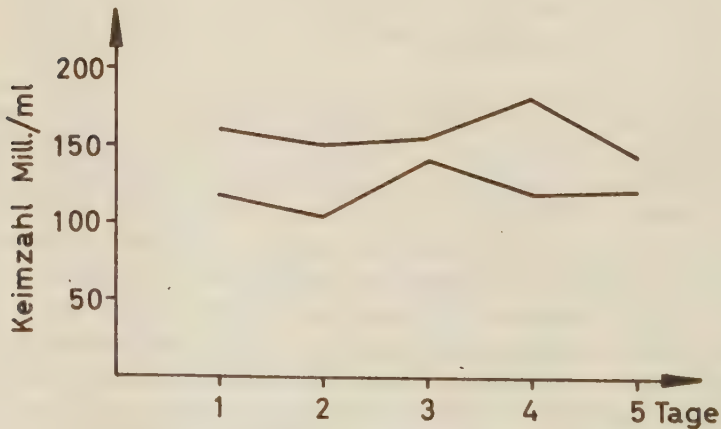


Abb. 9: Graphische Auswertung von Tabelle 4

Es treten in einem Falle Schwankungen um einen Mittelwert in der Größe von 15 %, im anderen Fall von 11 % auf. Bei dieser Genauigkeit müssen aber die Grenzen der Arbeitsmethode gesehen werden. Kleine Abweichungen im Speichelgehalt der Versuchspersonen und minimale menschliche Ungenauigkeit bei der Auswertung, aber auch übliche Fehlerquellen bei der Verdünnungsreihe, die sich nicht umgehen lassen, können hier als Ursache angesehen werden. FASSIN u.a. (12) führten Kontrollversuche beim Membranfilterverfahren mit 5 verschiedenen Ansätzen derselben Suspension durch und erhielten Schwankungen der Keimzahlen von 85×10^5 bis 97×10^5 . Verglichen mit anderen Methoden waren sie mit diesen Ergebnissen sehr zufrieden.

Man kann also wohl von einem in etwa konstanten Wert sprechen, das heißt, bei genügender Exaktheit im Versuchsablauf treten im Keimgehalt so geringe Abweichungen auf, daß ein Arbeiten mit ihnen und ein Erkennen aller stärkeren Veränderungen mit genügender Sicherheit möglich ist.

III. Hauptversuch

Das Verhalten der Mundflora nach Spiramycingaben

Unter diesen vorher geschilderten Voraussetzungen soll nun versucht werden, den Einfluß des Spiramycinspiegels im Speichel auf den Keimgehalt im Munde festzustellen. Gesunde Testpersonen sollen normale Tagesdosen des Antibiotikums nehmen. Die evtl. aufgefundenen Veränderungen sollen in Diagrammen festgehalten werden. Als Dauer der Einnahme werden 4 Tage festgelegt. Die Medikation über diesen Zeitraum wurde für ausreichend gehalten, einen gleichmäßigen Blut- und damit Speichelspiegel zu erreichen. Die Medikation über einen weiteren Zeitraum hinweg erschien nicht erforderlich, da sie an den einmal erreichten Spiegeln bis auf unwesentliche Verschiebungen nichts ändern würde, denn Spiramycin wirkt nach den Angaben der Herstellerfirma nicht bakterizid, sondern bakterio-statisch.

Sowohl SOMLO und GALLAI (31) wie auch KRISTOF und HUOT (16) fanden keine Unterschiede in der therapeutischen Wirksamkeit nach einmaliger und geteilter Tagesdosis. Hier erscheint es sinnvoller, die Tagesdosis in 2 Teilen morgens und abends zu verabreichen, da nach der Speichelspiegelkurve von SOUS (s.Seite 12) die Konzentration im Speichel nach 12 Stunden schon erheblich absinkt. So würde bei einmaliger täglichen Einnahme keine Konstanz erzielt werden.

Es soll also zunächst bei einer Gruppe von Versuchspersonen 4 Tage lang je eine Normaldosis des Antibiotikums Spiramycin auf seine Wirkung auf den Speichelspiegel untersucht werden. Die Tagesdosis von einem Gramm (Normaldosis laut Herstellerfirma) wird in zwei Rationen von je 2 Kapseln à 250 mg morgens und abends gegeben. Die Versuchsdauer soll von der Zeit der Einwirkung abhängen.

a) 1 g Spiramycin/die (Normaldosis)

Testperson I

4 Tage lang je 1 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
V.K.	1.	2 x 2	über 1000	135	17	170,0
23 J.	2.	2 x 2	über 1000	183	16	179,5
	3.	2 x 2	~ 750	68	9	83,5
	4.	2 x 2	275	31	5	30,8
	5.		550	65	7	71,0
	6.		413	54	7	65,5
	7.		~ 700	87	11	104,0
	8.		1000	141	16	158,5
	9.		über 1000	125	18	158,5
	10.		-	-	-	-

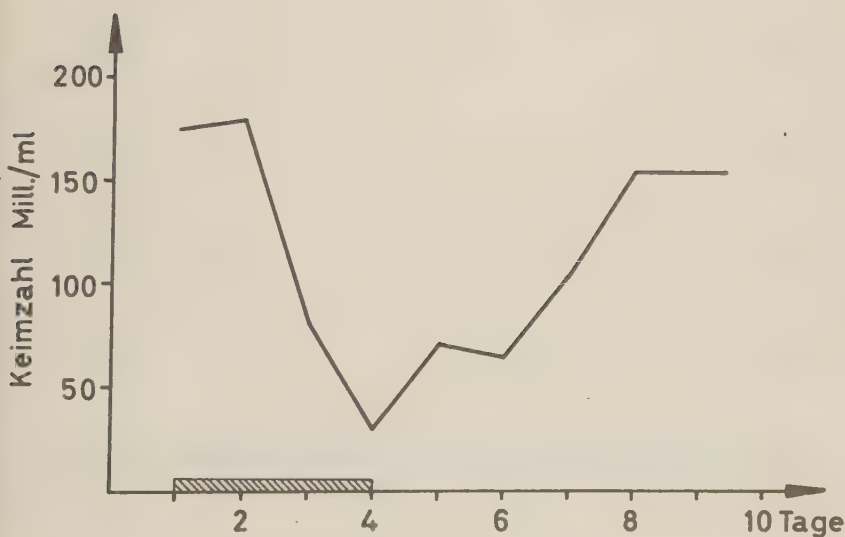


Abb. 10

Testperson II

4 Tage lang je 1 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
W.F.	1.	2 x 2	über 1000	123	14	138,5
23 J.	2.	2 x 2	über 1000	159	18	178,5
	3.	2 x 2	460	60	5	55,5
	4.	2 x 2	379	52	6	52,3
	5.		281	21	3	27,2
	6.		125	21	1	18,3
	7.		244	20	2	24,4
	8.		366	56	5	55,5
	9.		~ 1000	103	12	117,5
	10.		~ 950	101	13	122,0

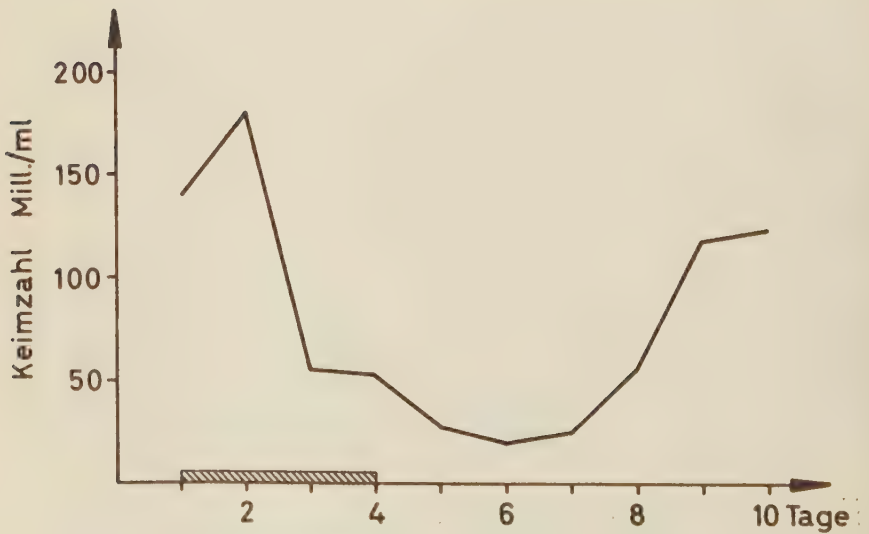


Abb. 11

Testperson III

4 Tage lang je 1 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
S.M.	1.	2 x 2	~ 730	94	12	100,0
24 J.	2.	2 x 2	~ 750	98	11	103,5
	3.	2 x 2	413	59	5	53,9
	4.	2 x 2	473	63	8	68,4
	5.		395	46	3	41,7
	6.		325	30	5	40,3
	7.		430	58	5	54,1
	8.		551	64	8	73,7
	9.		~ 600	69	7	73,0
	10.		~ 800	88	13	115,5
	11.		~ 730	95	12	104,0

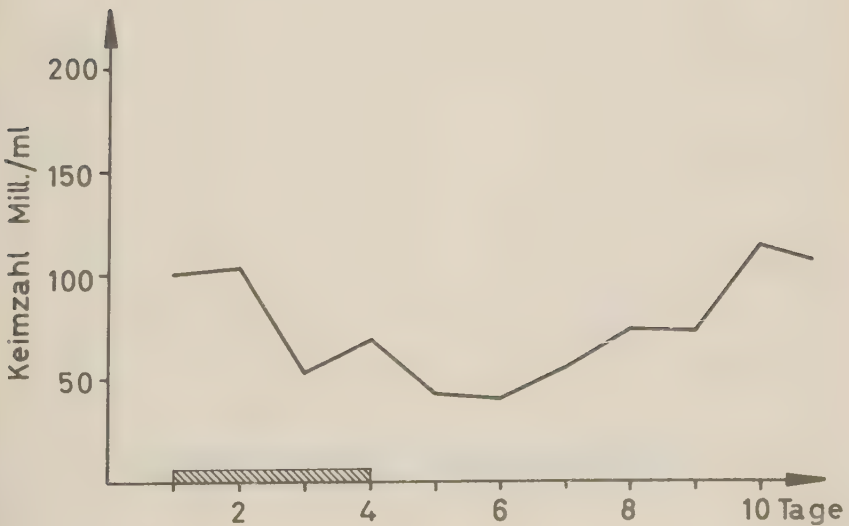


Abb. 12

Testperson IV

4 Tage lang je 1 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
E.F.	1.	2 x 2	~ 880	103	15	134,0
25 J.	2.	2 x 2	141	17	-	16,4
	3.	2 x 2	410	41	3	44,7
	4.	2 x 2	319	40	2	39,0
	5.		291	38	1	35,4
	6.		344	41	4	41,9
	7.		~ 750	93	10	101,5
	8.		383	45	5	47,7
	9.		-	-	-	-
	10.		~ 1000	120	18	159,0
	11.		~ 950	109	17	148,0

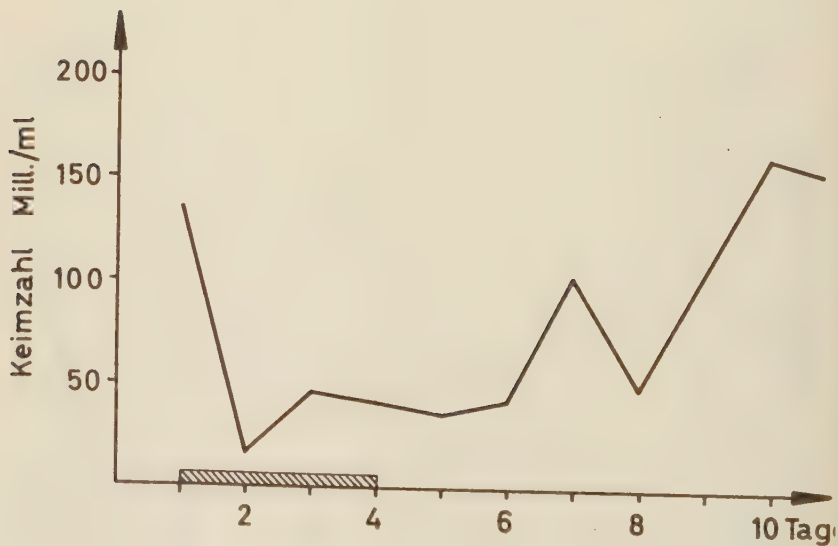


Abb. 13

Testperson V

4 Tage lang je 1 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
G.S.	1.	2 x 2	~ 700	107	18	152,5
25 J.	2.	2 x 2	98	13	2	13,1
	3.	2 x 2	322	43	6	52,2
	4.	2 x 2	403	33	6	47,7
	5.		447	39	5	47,3
	6.		-	-	-	-
	7.		~ 700	65	9	82,0
	8.		458	44	7	60,9
	9.		~ 800	103	14	128,5
	10.		~ 850	108	16	142,0

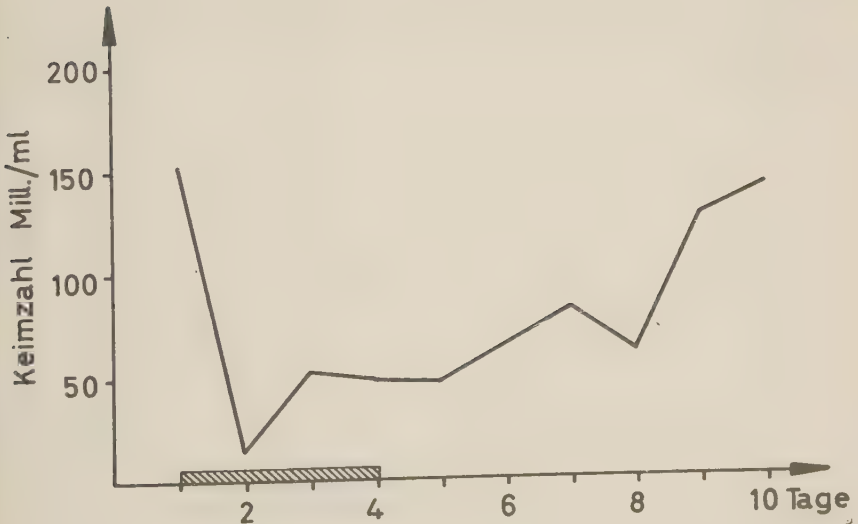


Abb. 14

Nachdem bei diesen 5 Versuchspersonen festgestellt worden ist, daß die Kurven der Keimkonzentrationen im Speichel in sehr ähnlichem Zeitablauf sehr gleiche Bewegungen zeigt, wird von einer Erweiterung dieser Versuchsreihe abgesehen, da mit einer Änderung des Kurvenverlaufes kaum zu rechnen ist. Überall ergibt sich ein starkes Abfallen der Keimzahl im Verlauf von 1 bis 2 Tagen, ein Verweilen auf niedrigen Werten über 4 bis 5 Tage und dann ein etappenweises Wiederansteigen zum Normwert. Dieser ist nach 9 bis 10 Tagen wieder erreicht. Unterschiede zeigen sich nur in Bezug auf den Beginn der Wirkung des Antibiotikums. Bei zwei Testpersonen liegt dieser bereits zwischen dem ersten und zweiten Tag, bei dreien erst zwischen dem zweiten und dritten. Auch der prozentuale Abfall der Keimzahl ist bei den einzelnen Testpersonen verschieden.

Stattdessen wird versucht, durch eine Erhöhung der Medikation eine Änderung der Keimzahl oder eine Verlängerung der Wirkung zu erreichen. So wird nun die zweite Versuchsreihe mit der doppelten Menge des Antibiotikums über den gleichen Zeitraum hinweg durchgeführt.

b) 2 g Spiramycin/die (doppelte Dosis)

Testperson I

4 Tage lang je 2 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
S.K.	1.	2 x 4	~ 710	109	11	115,0
24 J.	2.	2 x 4	398	46	5	48,6
	3.	2 x 4	94	13	3	13,5
	4.	2 x 4	122	19	2	17,5
	5.		231	27	4	28,6
	6.		433	71	6	62,6
	7.		~ 780	141	13	142,0
	8.		~ 590	88	7	82,5
	9.		~ 650	101	12	116,5
	10.		~ 800	112	10	111,0

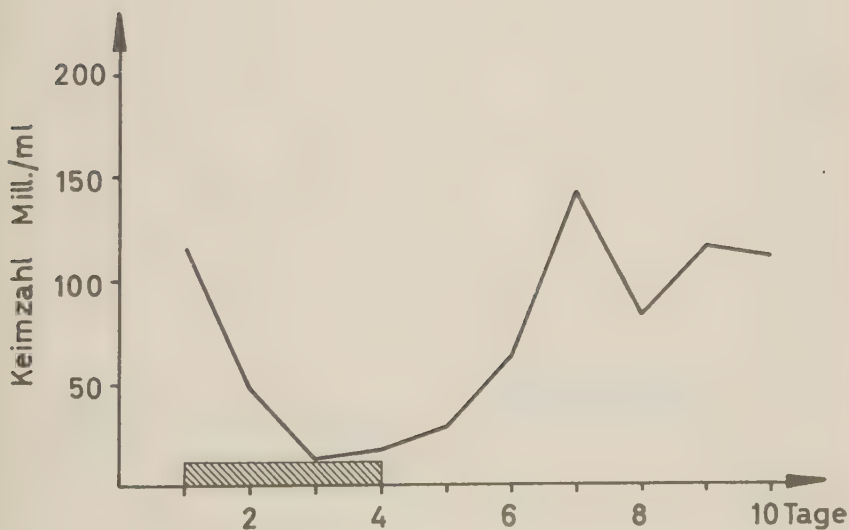


Abb. 15

Testperson II

4 Tage lang je 2 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
D.H.	1.	2 x 4	~ 750	104	12	118,0
27 J.	2.	2 x 4	~ 1000	121	16	148,5
	3.	2 x 4	455	62	3	58,5
	4.	2 x 4	325	24	2	30,5
	5.		396	38	5	43,4
	6.		-	-	-	-
	7.		~ 650	112	12	122,0
	8.		319	52	6	51,9
	9.		~ 830	117	15	141,0
	10.		~ 720	99	12	115,5

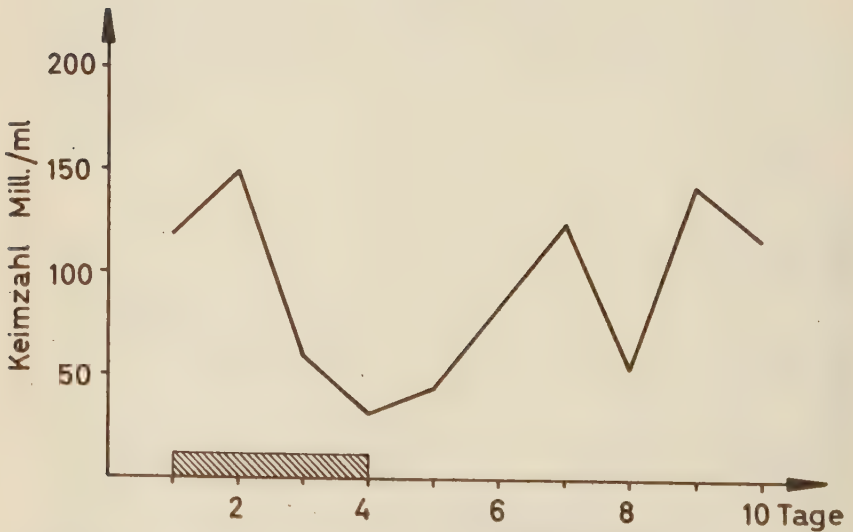


Abb. 16

Testperson III

4 Tage lang je 2 Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
M.S.	1.	2 x 4	über 1000	134	19	168,5
25 J.	2.	2 x 4	409	43	3	45,7
	3.	2 x 4	296	30	4	33,5
	4.	2 x 4	245	27	1	27,1
	5.		196	30	4	28,5
	6.		-	-	-	-
	7.		~ 1000	132	12	132,0
	8.		~ 590	54	6	60,0
	9.		über 1000	159	17	173,0
	10.		~ 1000	137	16	156,5

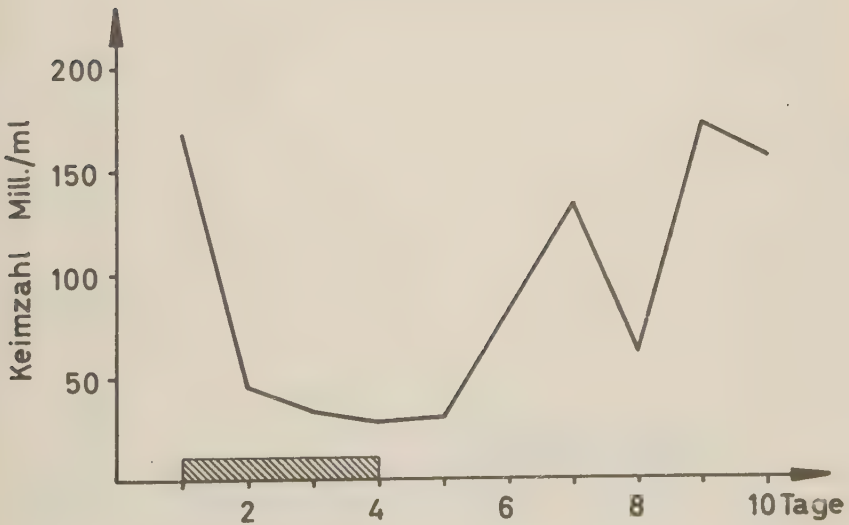


Abb. 17

Testperson IV

4 Tage lang je 2 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
H.-O.V.	1.	2 x 4	~ 650	104	11	112,5
24 J.	2.	2 x 4	~ 640	99	13	126,0
	3.	2 x 4	392	37	7	52,5
	4.	2 x 4	136	19	2	18,3
	5.		203	26	2	26,5
	6.		-	-	-	-
	7.		337	33	0	33,3
	8.		über 1000	193	22	217,5
	9.		~ 570	45	5	50,0
	10.		~ 760	96	13	119,5
	11		~ 720	103	13	123,0

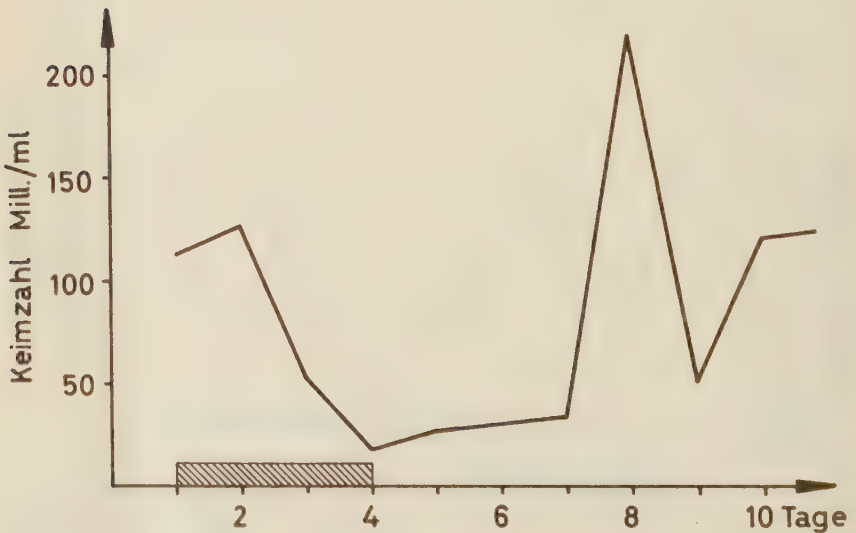


Abb. 18

Testperson V

4 Tage lang je 2 g Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
F.P.	1.	2 x 4	~ 640	93	12	112,5
27 J.	2.	2 x 4	71	17	4	15,1
	3.	2 x 4	84	10	3	11,3
	4.	2 x 4	26	5	0	4,0
	5.		-	-	-	-
	6.		58	8	2	8,4
	7.		357	49	9	63,2
	8.		476	60	11	78,5
	9.		107	11	2	12,5
	10.		559	88	13	115,5
	11.		~ 700	96	11	108,5

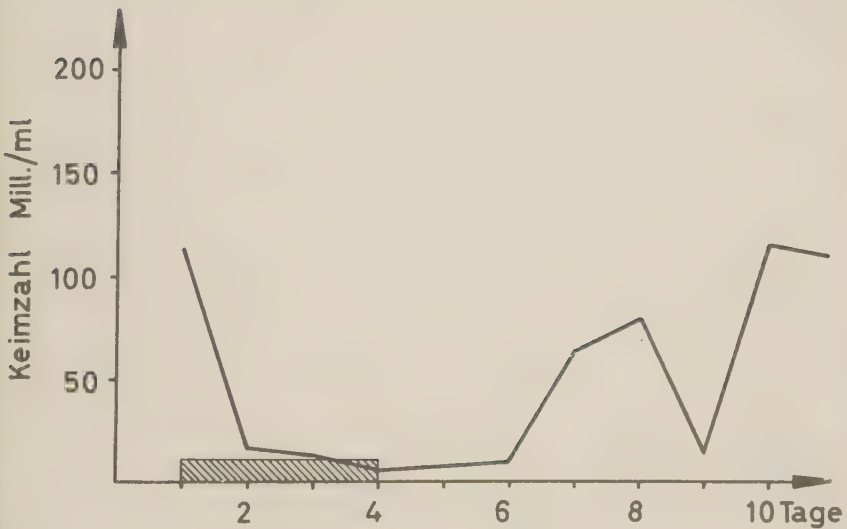


Abb. 19

Die zweite Versuchsreihe zeigt, daß die Erhöhung der Medikation auf die doppelte Menge auch von einer Verminderung der Keimzahl begleitet ist, summarisch auf etwa die Hälfte. Eine längere Verweildauer des Antibiotikums im Speichel der Versuchspersonen nach Absetzen der Medikation und damit eine länger anhaltende Reaktion wurde nicht festgestellt. Auch hier zeigte sich ein unterschiedlicher Beginn der Wirkung des Spiramycins. In 3 Fällen war die Reaktion schon am zweiten Tag festzustellen, bei den restlichen 2 Fällen erst am dritten. Allerdings konnte eine seltsame, charakteristisch verlaufende Besonderheit in der Kurve des Speichelspiegels festgestellt werden: Am 7. bis 8. Tag der Versuchszeit, d.h. 3 bis 4 Tage nach Absetzen der Medikation, wurde ein teilweise extrem starker Anstieg des Keimgehaltes mit sofortigem Wiederabfall vor dem Auspendeln zur Normalkeimzahl festgestellt. Rückblickend ist diese exponierte Stelle im Kurvenverlauf auch - allerdings nicht immer - in der ersten Versuchsgruppe zu bemerken. Den genaueren Vergleich aller einzelnen Versuche und der beiden Gruppen insgesamt liefern die folgenden graphischen Darstellungen:

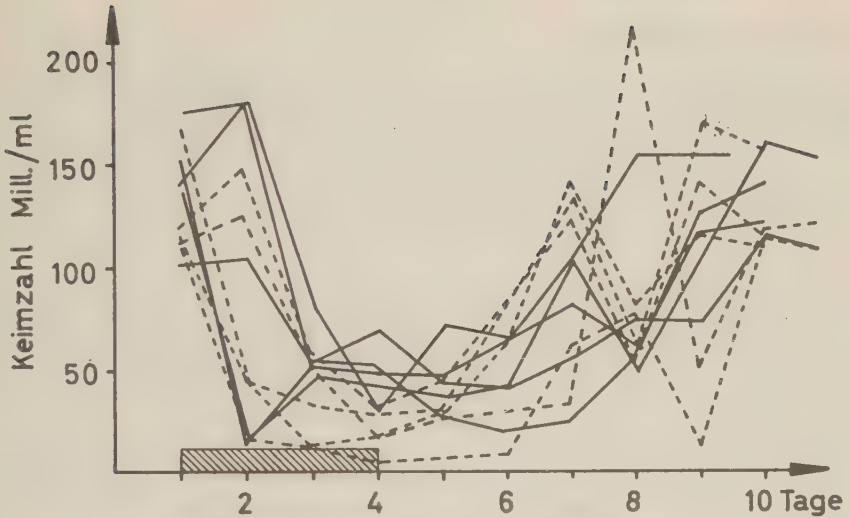


Abb.20 Speichelkonzentrationen nach viertägiger Gabe von Spiramycin (10 Probanden)

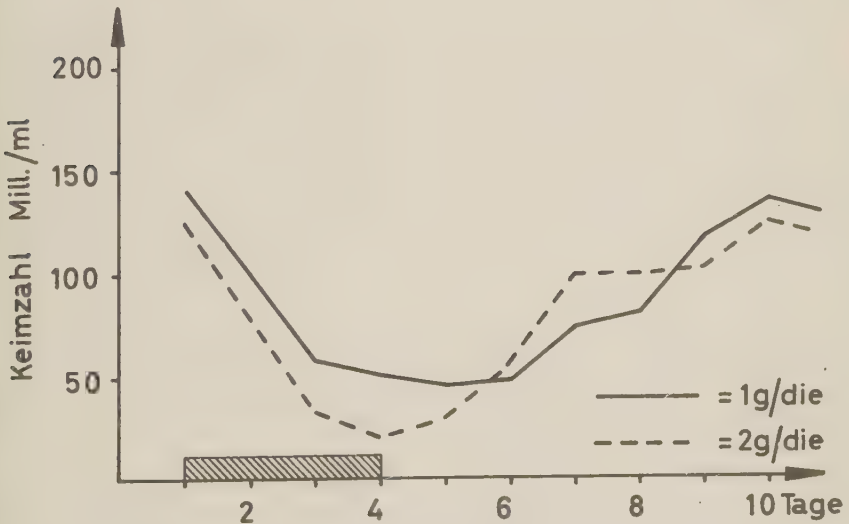


Abb.21 Mittelwerte nach einfacher und doppelter Tagesdosis

c) Nebenerscheinungen

Ogbleich Aufgabe dieser Arbeit nur sein soll, die Veränderungen der Mundflora unter dieser speziellen Antibiotika-Beeinflussung zu erforschen, scheint doch das Allgemeinbefinden der Testpersonen - gerade bei höheren Dosen, wie sie in der zweiten Versuchsreihe verabreicht wurden - während der Versuche von großem Interesse.

Wie schon oben erwähnt, ist die Beeinträchtigung der normalen Darmbesiedlung durch Antibiotikum-Therapie, besonders bei oraler Gabe, eine lästige, ja oft problematische Begleiterscheinung, die zu einer eigenen, evtl. die Grundbehandlung störenden Therapie zwingen kann.

Bei Befragung unserer Testpersonen erhielten wir in diesem Zusammenhang folgende Ergebnisse: Bei Normaldosierung des Spiramycin klagte keine der Personen über irgendwelche Nebenerscheinungen. Bei gezielter Anamnese erinnerten sich zwei an weiche Stühle während der ersten Versuchstage, jedoch schien ein kausaler Zusammenhang nicht gesichert.

Bei der Versuchsreihe mit doppelter Spiramycindosierung (2 g pro die) klagte eine Testperson (III) über Diarrhoe, Flatulenz und gelegentliche Schweißausbrüche, zwei weitere sprachen von leichten Diarrhoen während zwei bis drei Tagen ohne Beeinträchtigung des subjektiven Wohlbefindens, die restlichen zwei waren auch hier, obwohl die doppelte der von der Herstellerfirma angegebenen Normaldosis verabreicht wurde, erscheinungsfrei geblieben.

Wenn berücksichtigt wird, daß die Spiramycindosierung für kurzzeitige Behandlung bei 1 g pro die liegt, können wir die Beobachtungen von DALIGAND und PELLERAT, CARVALLO und HESS (s.S.10) auch in unseren Untersuchungen bestätigt finden:

Eine deutliche Beeinträchtigung des Magen-Darm-Traktes, die bei anderen oralwirksamen Antibiotika recht häufig zu beobachten ist, wird bei der Therapie mit Spiramycin kaum gefunden.

d) Vergleich mit anderen Antibiotika

Es soll, um das Bild des Spiramycin im Hinblick auf seine Besonderheiten abzurunden, noch ein kurzer Vergleich mit anderen Antibiotika angestellt werden. Hierbei ist nicht die klinische Wirkung vordringlich zu untersuchen, sondern es soll festgestellt werden, ob nicht auch die anderen Mittelspektrumantibiotika eine ähnliche Herabsetzung des Speichelkeimgehaltes verursachen. In der Arbeit von SOUS wird der Speichel- und Blutspiegel von Penicillin V und Propicillin mit dem von Spiramycin verglichen (s. Tabelle S.12). Dabei liegt der Speichelspiegel von Propicillin über dem von Penicillin V. Deshalb wird dieses Antibiotikum, das dann wohl auch eine stärkere Beeinflussung zeigen müßte, zum Vergleich herangezogen. Zwei Testpersonen sollen 3 Tage lang je eine normale Tagesdosis des einen, dann nach einer mehrwöchigen Pause 3 Tage lang eine Normaldosis des anderen Mittels nehmen. Täglich entnommene Speichelproben sollen dann wie oben ausgewertet werden.

Normale Tagesdosis ist:

Spiramycin: 4 Kapseln = 1 g Spiramycin

Propicillin: 3 Dragees = 600 000 IE

Testperson I

a) Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
D.R.	1.	2 x 2	~ 670	109	12	120,5
24 J.	2.	2 x 2	~ 610	91	12	111,5
	3.	2 x 2	261	34	2	32,9
	4.		338	40	2	40,0
	5.		420	56	6	56,7
	6.		~ 750	93	11	106,0

b) Propicillin

(16 Wochen Pause nach a)

Person	Tag	Propicillin-Dragees	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
D.R.	1.	3 x 1	~ 1000	121	13	132,5
24 J.	2.	3 x 1	~ 950	103	12	117,5
	3.	3 x 1	~ 600	71	7	74,0
	4.		~ 730	98	12	115,0
	5.		über 1000	119	14	136,5
	6.		~ 900	106	13	124,5

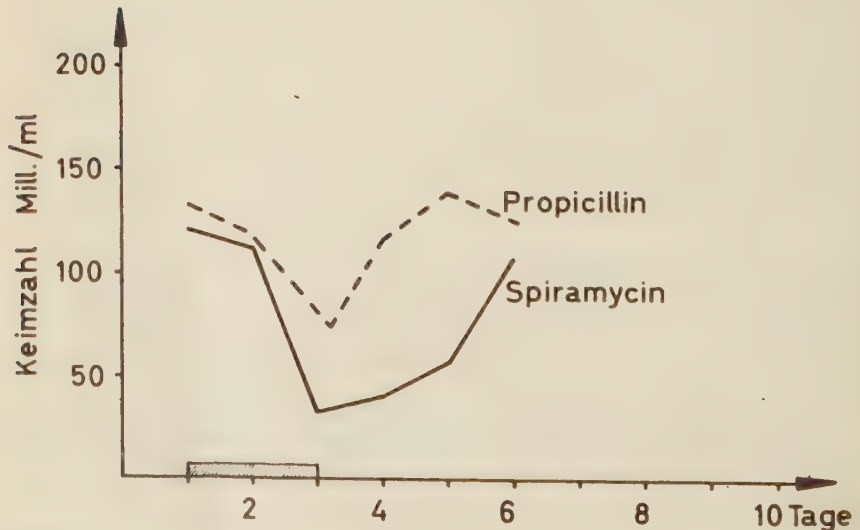


Abb. 22

Testperson II

a) Spiramycin

Person	Tag	Spiramycin-Kapseln	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
C.J.W.	1.	2 x 2	über 1000	139	19	173,5
24 J.	2.	2 x 2	216	30	3	28,9
	3.	2 x 2	235	23	2	25,5
	4.		~ 530	49	6	57,5
	5.		~ 700	46	8	72,0
	6.		über 1000	153	17	170,0

b) Propicillin

(16 Wochen Pause nach a)

Person	Tag	Propicillin-Dragees	10^6	10^7	10^8	Keimzahl Mill./ml
C.J.W.	1.	3 x 1	480	57	6	59,1
24 J.	2.	3 x 1	327	27	5	33,9
	3.	3 x 1	~ 600	56	6	61,0
	4.		383	44	7	54,8
	5.		~ 510	54	6	60,0
	6.		~ 520	62	6	64,0

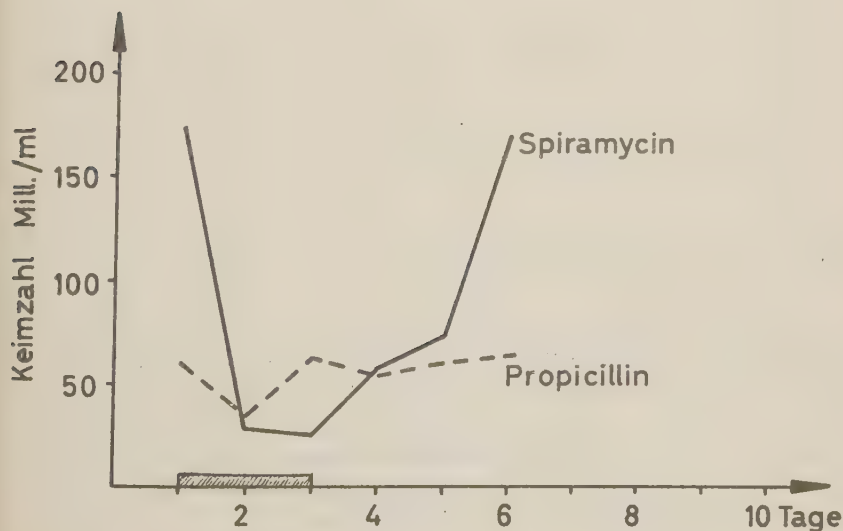


Abb. 23

Es zeigt sich, daß das Propicillin entsprechend seinem niedrigeren Speichelspiegel auch eine geringere Auswirkung auf den Mundkeimgehalt hat. Nur am 2. bzw. 3. Tag der Einnahme wurde die Keimzahl wahrnehmbar reduziert. Danach ist keine Beeinflussung mehr feststellbar. Dagegen zeigt das Spiramycin eine über 3 bis 4 Tage anhaltende - und vor allen Dingen weitaus massivere - Reaktion.

D. Diskussion

Aus diesen Versuchsreihen ist zu ersehen, daß das Antibiotikum Spiramycin eine erhebliche Keimreduktion im Speichel hervorruft. Es wurde von SOUS festgestellt, daß der Speichelspiegel bei Spiramycin erheblich höher liegt als bei allen anderen bisher untersuchten Antibiotika. Dieser erhöhte Speichelspiegel führte in unseren Versuchsreihen bei gesunden Schleimhautverhältnissen zu einer so erheblichen Verminderung des Keimgehaltes des Mundes, das daraus auf eine therapeutische Wirkung des untersuchten Mittels besonders über den Speichel geschlossen werden kann.

Ein Vergleich mit dem im Bereich der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde besonders gebräuchlichen Propicillin hat gezeigt, daß dieses Präparat, das wie die meisten Antibiotika über den Blutspiegel seine Wirkung entfaltet, eine wesentlich geringere und kurzfristigere Verminderung des Mundkeimgehaltes verursacht.

Der charakteristische Anstieg der Keimzahl am 7. Tage der Versuchsreihen mit anschließendem Wiederabfall, der in den Fällen mit einfacher Behandlungs-dosis schwach, in denen mit doppelter Dosis aber sehr stark ausgeprägt war, bedarf noch der Aufklärung. Es kann hier noch nicht gesagt werden, ob dieser Anstieg auf eine kurzfristige Änderung der Resorptionsverhältnisse im Magen-Darm-Traktus - wir möchten es annehmen - oder auf andere Einflüsse zurückzuführen ist. In Frage käme eine kurzfristige Resistenzveränderung der Keime oder eine eventuelle Beeinflussung der Gallensekretion auf die Wirksamkeit des Mittels im Darminhalt.

E. Zusammenfassung

Das Antibiotikum Spiramycin führt - in Übereinstimmung mit den von PELLERAT und MAILLARD sowie SOUS nachgewiesenen hohen Konzentrationen im Speichel - zu einer starken Verminderung des Keimgehaltes der Mundhöhle und übertrifft dabei das Antibiotikum Propicillin eindeutig. Die Verminderung der Keime ist unter der Behandlung mit Tagesdosen von 1 bis 2 g Spiramycin bereits am 2. Tag nachweisbar. Der Keimgehalt erreicht bei der in unserer Versuchsanordnung über 4 Tage durchgeführten Behandlung sein Minimum am 3. bis 4. Tag. Nach Absetzen der Behandlung steigt der Keimgehalt im allgemeinen bis zum 7. Tag wieder an, um sich dann auf das vor der Behandlung bestehende Keim-Niveau einzustellen. Die hohe Spiramycin-Konzentration im Speichel und die deutliche Keimreduktion lassen somit die von verschiedenen Klinikern beschriebenen therapeutischen Erfolge mit Spiramycin bei Infektionen im Bereich der Mundhöhle erklären.

F. Literaturverzeichnis

- 1) BACHMANN, W.: Über Membranfilter, ihre Wirkung und Anwendung in Wissenschaft und Technik. Chem.Ztg. 110, 595 (1919)
- 2) BELING, A.: Anwendung der Membranfilter in der Bakteriologie (Dtsch.Zusammenfassung). Bull.Verein.russ.Emigrantenärzte Biologen zu Ehren von N.Pirogow, Nr.3 - 4 (1949)
- 3) BERGER, U.: Mikrobiologie der Mundhöhle, Urban & Schwarzenberg, München und Berlin, 1955
- 4) BERGER, U. und HUMMEL, K.: Einführung in die Mikrobiologie und Immunologie. 2.Aufl. Urban & Schwarzenberg, München u.Berlin 1964
- 5) CARVALLO, D.: Notes cliniques. D) Traitement antibiotique de la pyorrhée. Inform.dent. Paris 43, 2901 (1962)
- 6) COUTOURIER, P.: Contribution à l'emploi de la spiramycine dans les parodontopathies. Inform.dent., Paris 39, 765 (1958)
- 7) DALIGAND, P.: Les parodontoses. Resultats de 3 années de traitements par la spiramycine. Rev.Stomat., Paris 59, 784 (1958)
- 8) DALIGAND, P. und PELLERAT, J.: Essais d'un nouvel antibiotique dans la parodontose. Rev.Stomat., Paris 57, 381 (1956)
- 9) DUREL, M. P.: Faits récents sur la spiramycine. Giorn.ital.: Chemoter. 4, 243 (1957)
- 10) DUREL, M.: Un nouvel antibiotique. La spiramycine. Journées thérapeut. Paris 1955, 437
- 11) EIDUS, L., MANIAR, A.C. und FURECZ, J.: The affinity for monkey tissue of five antibiotics having Erythromycin-like spectra. Chemotherapie 4, 398 (1962)
- 12) FASSIN, W., HENGEL, R. und KLEIN, P.: Bakteriostase und Bakterizidie als Alternativen des antibakteriellen Chloramphenicol-effektes. Hyg. 141, 363 (1955)

- 13) HALLMANN, L.: Bakteriologie und Serologie. 3. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1961
- 14) HESS, J. C.: Un antibiotique efficace dans le traitement de la pyorrhée alveo-dentaire. Rev. franc. odonto-stomat. 5, 1560 (1958)
- 15) KOTNIK, Z.: Zur Anwendung von Selectomycin in der Mund-, Zahn- und Kieferheilkunde. Zahnärztl. Welt 67, 320 (1966)
- 16) KRISTOF, A. C. und HUOT, J. M.: L'efficacité clinique de la spiramycine. Union méd. Canada 89, 1035 (1960)
- 17) MANIAR, A. C. und EIDUS, L.: Un des facteurs influençant l'action des Antibiotiques. Ann. Inst. Pasteur, Paris 101, 887 (1961)
- 18) MEIER, G.: Antibiotische Behandlung von Erkrankungen des Parodontiums. Zahnärztl. Praxis 17, 39 (1966)
- 19) Membranfiltergesellschaft Göttingen: Sterilisation der Filtrationsgeräte. Information M1 - 108
- 20) MOESCHLIN, B. und SCHROEDER, A.: Die Behandlung von Parodontopathien mit dem Antibioticum "Rovamycin". Schweiz. Mschr. Zahnh. 70, 96 (1960)
- 21) MÜLLER, G.: Mikrobiologie, Seuchenlehre und allgemeine Hygiene. 8. Aufl. Mensing u. Co., Hamburg (1965)
- 22) NELKEN, S., PELLERAT, J., BARBASSON, J. u. MASSAUX: Pouvoir de concentration de la glande mammaire vis-à-vis de la spiramycine. Bull. Soc. gynéc. obstétr. (Paris) 8, 107 (1956)
- 23) NEUWEILER, W. und RITTER, P.: Über die Behandlung der Mastitis puerperalis mit Rovamycin. Geburtsh. u. Frauenhk. 17, 403 (1957)
- 24) PELLERAT, J.: Sur l'élimination salivaire de quelques antibiotiques. Presse méd. 71, 2135 (1963)
- 25) PELLERAT, J. und MAILLARD, M.-A.: Etudes sur l'élimination salivaire de la spiramycine et de divers antibiotiques. Actual. odonto.-stomat. 17, 65 (1963)
- 26) PELLERAT, J. und MAILLARD, M.-A.: Fixation tissulaire de la spiramycine chez le cobaye. Comparaison avec

- d'autres antibiotiques. Compt.rend. Acad.Sci., Paris 247, 894 (1958)
- 27) PINDBORG, J.J.: Tobacco and gingivitis. J.Dent.Res. 26, 261 (1947)
- 28) SCHLIENGER, A.: Etude comparative de la concentration sanguine de l'erythromycine et de la spiramycine après administration par voie buccale. Diss. Paris 1955
- 29) SCHMIDT, E.W.: Über Anwendung von Membranfiltern in der Mikrobiologie. Zbl.Bakt. II 58, 464 (1923)
- 30) SCHÜLE, H.: Untersuchungen über die Wirksamkeit antibakterieller Maßnahmen bei der marginalen Parodontitis. Dtsch.zahn-ärztl.Zschr. 21, 92 (1966)
- 31) SOMLO, F. und GALLAI, Z.: Clinical results with spiramycin. Antimicrob.Agents. Annual 1960, 639
- 32) SOUS, H.: Membranfiltertechnik und Chemotherapie. Ärztl.Labor. 3, 18 (1957)
- 33) SOUS, H.: Zur Ausscheidung von Spiramycin und Penicillin im Speichel. Zahnärztl. Welt 65, 523 (1964)
- 34) WILLIAMS, N.B. und EICKENBERG, C.F.: Effects of sonic vibration on the number of microorganismus culturable from human saliva. J.Dent.Res. 31, 428 (1952)

Am Schluß meiner Arbeit sei es mir gestattet, Herrn Privatdozent Dr. H. B ü c h s für die Stellung des Themas und die freundliche Beratung in allen praktischen und theoretischen Fragen zu danken. Zum andern gilt mein Dank der Chemie Grünenthal GmbH, Stolberg, für die Überlassung des zu untersuchenden Präparates.

L e b e n s l a u f

Am 28. Juni 1942 wurde ich als zweiter Sohn des Zahnarztes Dr. phil. Robert Kl ö s e r und seiner Ehefrau, der Zahnärztin Dr. med. dent. Martha Klöser, geb. Menge, in Stolberg/Rheinland geboren.

Nach dem Besuch der katholischen Volksschule und des humanistisch-neusprachlichen Gymnasiums in Stolberg, wo ich im Frühjahr 1961 meine Reifeprüfung bestand, widmete ich mich an der Universität Bonn dem Studium der Zahnmedizin. Nach dem Sommersemester 1963 bestand ich hier die zahnärztliche Vorprüfung mit der Zensur "gut". An den Universitäten München und Bonn verbrachte ich den klinischen Teil meines Studiums. Nach dem Wintersemester 1965/66 meldete ich mich in Bonn zum zahnärztlichen Staatsexamen, das ich im Juli 1966 mit "gut" bestand. Seit dieser Zeit bin ich als Assistent in freier Praxis tätig.

